

CITOTOKSIČNI EFEKAT VODE IZ JEZERA VIDARA

*Amela Hercegovac, Aldijana Avdić, Edina Hajdarević, Snježana Hodžić,
Enisa Sinanović, Elvin Konjić*

Izvod: Cilj ovog rada je utvrđivanje stepena citotoksičnog i genotoksičnog efekta vode iz jezera Vidara (Bosna i Hercegovina). Uzorci vode uzeti su na pet različitih lokaliteta. Najveća srednja vrijednost dužine korjenčića luka (*Allium cepa*) je utvrđena pri tretmanu uzorkom vode sa sjeverne strane jezera i iznosila je 22,53 mm. Na istom uzorku vode zabilježena je i najveća srednja vrijednosti mitotičkog indeksa (27,5%). Najveća razlika u vrijednosti mitotičkog indeksa uočena je između vrijednosti dobivene na lokalitetu zapad i kontrolnog uzorka, ali ta razlika nije statistički značajna na nivou $p < 0,05$ ($T = 1,45589$; $p = 0,141351$). Rezultati upućuju na zaključak da voda iz jezera Vidara nema značajan genocitotoksični efekat.

Ključne reči: citotoksični, genotoksični, mitotički indeks, jezero Vidara

Uvod

Jezera i drugi izvori slatke vode služe kao resursi koji osiguravaju vodu za piće, higijenu, industrijske potrebe, proizvodnju električne energije i druge namene. Takvih karakteristika je i jezero Vidara koje je nekad privlačilo veliki broj turista. Nastalo je 1971. godine izgradnjom zemljane brane u potoku Vidara, uz rijeku Gradišnicu, sa namjenom da se spriječi poplava dijela naselja i industrijske zone, ali i obezbjeđivanja vode za potrebe industrije. Vodene površine od oko 50 ha, prosječne dužine 1500 m i prosječne širine 350 m, obuhvata dio korita potoka Vidara i pripadajuće prirodne depresije (Arnautalić i sar., 1997).

Genotoksikološki efekat voda temelji se na činjenici da u prirodne vodotokove dopijevaju razne štetne materije koje mogu uticati na nestabilnost genetskog materijala, kako vodenih organizama tako i onih koji su u kontaktu sa prirodnim vodotocima. Često su količine ovih polutanata ispod nivoa detekcije, ali svojim dugoročnim djelovanjem utiču na genom izazivajući razne promjene. Osnovni preduslov zaštite nasljednog materijala biljnog, animalnog i humanog je uspostavljanje sistema praćenja i kontrole djelovanja genotoksičnih agenasa (Košarčić i sar., 2012). Biotestovi zasnovani na primjeni biljnog materijala su osjetljivi i mogu dati upozorenje o stanju vode kao životne sredine. Osim toga biljni materijal se pokazao najpovoljnijim, jer je osjetljiv,

Amela Hercegovac, Univerzitet u Tuzli, Prirodno-matematički fakultet u Tuzli, Univerzitetska 4, Tuzla, BiH (amela.hercegovac@untz.ba)

Aldijana Avdić, Univerzitet u Tuzli, Prirodno-matematički fakultet u Tuzli, Univerzitetska 4, Tuzla, BiH (aldijana.tursunovic@untz.ba)

Edina Hajdarević, Univerzitet u Tuzli, Prirodno-matematički fakultet u Tuzli, Univerzitetska 4, Tuzla, BiH

Snježana Hodžić, Univerzitet u Tuzli, Prirodno-matematički fakultet u Tuzli, Univerzitetska 4, Tuzla, BiH

Enisa Sinanović, bachelor primjenjene biologije, enisa.sinanovic@hotmail.com

Elvin Konjić, bachelor primjenjene biologije, elvin.konjic92@hotmail.com

jeftin i pouzdan. Korijen biljke je najpogodniji materijal u biološkim testovima, jer je prvi objekat koji je izložen hemijskim promjenama vode i tla (Fiskejsö, 1985).

Allium test je veoma jednostavan i pouzdan način proučavanja djelovanja hemijskih agenasa iz vode na genom. Test omogućuje praćenje hromozoma tokom mitoze, kao i oštećenja genetičkog materijala na hromozomskom nivou u smislu kinetike, separacije, strukture i organizacije hromozoma, kao i drugih promjena u mitotičkom ciklusu. Cilj ovog rada je utvrđivanje stepena citotoksičnog i genotoksičnog efekta vode iz jezera Vidara. Odabrano je pet lokaliteta sa kojih su uzeti uzorci vode, a za samu analizu korišten je *Allium* anafazno-telofazni test (Fiskejsö, 1985).

Materijal i metode rada

Uzorci vode iz akumulacije Vidara uzeti su na pet različitih lokaliteta u sterilne posude zapremine 1000 ml i transportovani u laboratoriju u prenosnom frižideru. Rezultati *Allium* anafazno-telofaznog testa su dobijeni analizom mitotičke aktivnosti (indeks mitoze) meristemskih ćelija korjena luka, odnosno frekvencijom pojedinih faza mitoze na osnovu analize po deset preparata za kontrolne tretmane i za svaki analizirani uzorak. Mitotički indeks je iskazan postotkom ćelija u diobi u odnosu na ukupan broj analiziranih ćelija. Lukovice luka (*Allium cepa*) su 24 sata postavljene nad česmenskom vodom kako bi se potaknuo rast korjenčića. Nakon toga su uronjene u vodu odgovarajućeg uzorka vode sa različitog lokaliteta, gdje su korjenčići rasli dodatnih 48 sati. Uzorci vode su podjeljeni u pet skupina prema lokalitetu. U svakoj analiziranoj skupini postavljeno je 15 lukovica *Allium cepa* za analizu i po jednu negativnu (česmenska voda). Za analizu citotoksičnog efekta mjeren je dnevni porast korjenčića u dužinu. Prvo mjerenje je vršeno nakon 24 sata, drugo nakon 48 sati i treće nakon 72 sata. Za izradu privremenih mikroskopskih preparata i determinaciju mikroskopskih parametara korišteno je po 10 lukovica iz svake skupine i lukovice za pozitivnu kontrolu. Lukovice za negativnu kontrolu nisu korištene zato što nije bilo porasta vrhova korjenčića. Tretirani korjenčići luka su nakon 72 sata isprani u destiliranoj vodi i izrezani u segmente 1-2 cm dužine od vrha i fiksirani u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (45%) 30 min na sobnoj temperaturi, a zatim isprani dva puta u etanolu (70%) 5 min. Potom su uzorci prebačeni u 70% etanol i zapečaćeni pomoću rastezljivog filma i pohranjeni na + 4°C do upotrebe. Neposredno pred izradu preparata vrhovi korjenčića su hidrolizirani u 1 M HCl 3 min na sobnoj temperaturi i potom obojeni 2% otopinom aceto-orceina 30-60 min. Iz svake grupe uzoraka pripremljeno je po deset preparata za utvrđivanje mitotičkog indeksa, indeksa faza i navedenih aberacija hromozoma. Uzorci korjenčića dužine (1-2 mm) izmacerirani su na sitne komade i prebačeni iz boje na predmetno staklo uz dodatak 45%-tne sirćetne kiseline. Privremeni preparati su zatvoreni zagrijanim parafinom (Berberović, 1970.). Vrijednost mitotičkog indeksa računata je preko proporcije sume svih ćelija u ćelijskoj diobi i ukupnog broja posmatranih ćelija pomnoženo sa 100 (Prabhakar and Sakya, 2008).

$$M(\%) = \frac{\sum(P + M + A + T)}{\sum(P + M + A + T + I)} \times 100$$

P- profaza, M- metafaza, A- anafaza, T- telofaza, I- interfaza.

U daljoj citogenetičkoj analizi analizirane su promjene strukture i kinetike hromozoma, odnosno iregularnosti na nivou ćelija i hromozoma tokom svih faza ćelijskog ciklusa. Za statističku obradu rezultata primjenjen je T – test.

Rezultati istraživanja i diskusija

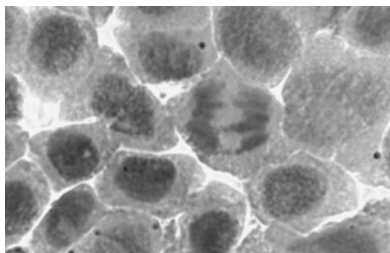
Mjerenja dužine korjenčića rađena su svakih 24 sata (ukupno po tri mjerenja po uzorku). Rezultati analize citotoksičnog efekta prikazani su u (Tabeli 1.). Iz poraslih korjenčića su pripremljeni preparati. Na osnovu mikroskopskog posmatranja i analiziranja pojedinačnih faza mitoze kao i ukupnog broja ćelija koje se nalaze u diobi, izračunate su vrijednosti mitotičkog indeksa (Tabela 1.). Najveća razlika u vrijednosti MI uočena je između vrijednosti dobivene na lokalitetu zapad i kontrolnog uzorka, ali uočena razlika nije statistički značajna na nivou $p < 0,05$ ($T = 1,45589$; $p = 0,141351$).

Tabela 1. Srednje vrijednosti broja i dužine korjenčića i mitotičkog indeksa po analiziranim lokalitetima

Table 1. Mean values of the number and length of roots and mitotic index by the analyzed sites

Lokalitet <i>Sites</i>	Broj korjenčića <i>Number of roots</i>	Dužina korjenčića (mm) <i>Length of roots</i>	Mitotički indeks (%) <i>Mitotic index</i>
Lokalitet C <i>Sites C</i>	11,78	19,08	25,1
Lokalitet Z <i>Sites Z</i>	13,90	18,32	19,3
Lokalitet S <i>Sites S</i>	15,31	22,53	27,5
Lokalitet J <i>Sites J</i>	13,84	18,95	25,3
Lokalitet I <i>Sites I</i>	14,03	22,11	27,4
Kontrolni uzorak <i>Control sample</i>	12,00	22,00	26,8

Najveći procenat hromozomskih anomalija evidentiran je u uzorku vode uzetom na zapadnoj strani jezera i iznosi 0.15%. U uzorku centralnog dijela jezera evidentirano ih je 0.1%, u uzorku na južnoj strani 0.05%. U uzorcima uzetim na centralnom i sjevernom dijelu dijela jezera nije utvrđeno prisustvo anafaznih mostića.



Slika 1. Meristemske ćelije korjenčića *Allium cepa* u mitozu (anafazni mostić)
(originalna slika, uvećanje 400x)

Figure 1. Meristem cells of *Allium cepa* roots port in mitosis (anaphase causeway)
(original image, magnification 400x)

Zaključak

Stepen citogenetskih promjena svakako zavisi od stepena opterećenja jezerske vode štetnim agensima. Utvrđene su manje vrijednosti srednje dužine korjenčića na analiziranim lokalitetima u odnosu na kontrolni uzorak, kao i manje vrijednosti mitotičkog indeksa. Uočene razlike nisu statistički značajne, što upućuje na zaključak da analizirana voda ne sadrži u značajnoj mjeri agense sa citogenotoksičnim efektom. Rezultati istraživanja pokazuju da razlike između istraživanih lokaliteta nisu značajne, što potvrđuje činjenica da se u blizini ispitivanih lokaliteta ne nalaze potencijalni zagađivači. Dodatna istraživanje koja bi bila usmjerena na analizu nasljednog materijala organizama koji žive u jezeru Vidara ili na bilo koji drugi način koriste određen vremenski period vodu iz ovog ekosistema, bila bi korisna za bolje razumijevanje posmatrane pojave.

Literatura

- Arnautalić Z., Erben R., Mišetić S., Tomac M., Maguire I. (1997). O preliminarnim istraživanjima kvaliteta voda i karakteristika akumulacionih jezera Hazna i Vidara (elaborat).
- Berberović Lj. (1970). Poznavanje i posmatranje hromosoma. Zavod za izdavanje udžbenika, Sarajevo.
- Fiskejsö G. (1985). The *Allium* test as a standard in enviromental monitoring. Hereditas, 102(1), 99-112.
- Košarčić S., Kovačević M., Milanov D., Bugarski D., Prunić B., Plavša N. (2012). Utvrđivanje genotoksičnosti vode na nekim lokalitetima za napajanje divljači u lovištima Vojvodine. Arhiv veterinarske medicine, 5(2), 19-25.
- Prabhakar B., Sakya S.R. (2008). Study of mitotic activity and chromosomal behaviour in root meristem of *Allium cepa* L. treated with magnesium sulphate. ECOPRINT, 15, 83-88.
- Rank J. (2003). The method of *Allium* anaphase – telophase chromosome aberration assay, Ekologija (Vilnius), 1. 38-42.

CYTO-GENOTOXIC EFFECTS OF THE WATER FROM VIDARA LAKE

*Amela Hercegovac, Aldijana Avdić, Edina Hajdarević, Snježana Hodžić,
Enisa Sinanović, Elvin Konjić*

Abstract

The aim of this study is to determine the degree of cytotoxic and genotoxic effects of the water from Vidara lake. Water samples were taken at five different sites. The highest mean length of roots was in the sample of water from the North side of the lake and it is 22,53 mm. The same water sample also had the highest median value of the mitotic index i 27.5%. The biggest difference in the value of the mitotic index was observed between the values obtained at the West side and the control sample, but this difference was not statistically significant at the level $p < 0,05$ ($T = 1,45589$; $p = 0,141351$). The results suggest that water from the lake Vidara has no significant genocitotoxic effect.

Keywords: cytotoxic, genotoxic, mitotic index, lake Vidara

Amela Hercegovac, Faculty of Science, University of Tuzla, Univerzitetska 4, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina (amela.hercegovac@untz.ba)

Aldijana Avdić, Faculty of Science, University of Tuzla, Univerzitetska 4, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina (aldijana.tursunovic@untz.ba)

Edina Hajdarević, Faculty of Science, University of Tuzla, Univerzitetska 4, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina

Snježana Hodžić, Faculty of Science, University of Tuzla, Univerzitetska 4, 75000 Tuzla, Bosnia and Herzegovina

Enisa Sinanović, Bachelor of Applied Biology, enisa.sinanovic@hotmail.com

Elvin Konjić, Bachelor of Applied Biology, elvin.konjic92@hotmailcom